

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08319

研究課題名(和文)表皮I B を軸とした皮膚細菌叢異常による自己免疫疾患発症機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of the pathogenic mechanism of autoimmune diseases caused by skin dysbiosis with epidermal I kBzeta

研究代表者

水芦 政人 (Mizuashi, Masato)

東北大学・医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：20400369

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：自己免疫疾患の発症に腸内細菌叢が関与している可能性が示唆されているが、皮膚細菌叢の関与は不明であった。我々は先行研究において上皮細胞特異的I B 欠損マウスがシェーグレン症候群様皮膚炎を自然発症することを報告したが、同マウスの病変部皮膚において黄色ブドウ球菌の生着数が増加していることを今回新たに見出し、さらに、皮膚への長期的な黄色ブドウ球菌塗布により自己免疫炎症が増悪することが明らかとなった。その分子機序として、黄色ブドウ球菌が表皮細胞のアポトーシスを誘導し、好中球と樹状細胞の活性化を介してIL-23/IL-17軸のサイトカイン産生が亢進し、自己免疫炎症が惹起されることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自己免疫疾患に関わる細菌叢の研究では腸内細菌叢の関与を調べる研究がこれまでになされてきたが、皮膚細菌叢の関与に関して発症機序まで解析した研究は皆無であった。臨床研究からは皮膚細菌叢が乱れている代表的な炎症性疾患であるアトピー性皮膚炎の罹患者が自己免疫疾患の発症率が高いことが報告されている。今回の我々の研究結果からアトピー性皮膚炎や慢性皮膚疾患による炎症により皮膚細菌叢のバランスが崩れると自己免疫疾患を発症する可能性が示唆された。したがって、アトピー性皮膚炎や慢性皮膚疾患の罹患者は適切な治療を行い皮膚細菌叢のバランスを是正することが重要であることを示唆するため、その社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has been suggested that the gut microbiota may be involved in the pathogenesis of various autoimmune diseases, but the involvement of the skin microbiota has remained unclear. In our previous study, we reported that epithelial cell-specific I B -deficient mice spontaneously develop Sjogren's syndrome-like dermatitis, and we newly found that the number of Staphylococcus aureus colonies in the lesional skin of these mice was increased. In addition, long-term application of Staphylococcus aureus to the skin exacerbates autoimmune inflammation. The molecular mechanism of this autoimmune reaction is that Staphylococcus aureus induces apoptosis of epidermal cells and enhances cytokine production in the IL-23/IL-17 axis via activation of neutrophils and dendritic cells, which in turn induces autoimmune inflammation.

研究分野：自己免疫疾患

キーワード：皮膚細菌叢 黄色ブドウ球菌 自己免疫疾患 全身性エリテマトーデス 皮膚免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

自己免疫疾患は、全身の臓器において自己抗体の産生を伴う慢性的な炎症をきたす疾患であり、詳細な病因や病態はまだ十分に解明されていない。近年の研究から全身性エリテマトーデス(SLE)や多発性硬化症などの自己免疫疾患の発症に、腸内細菌叢のアンバランスが関与するという報告が相次いでいる。しかしながら、皮膚の細菌叢と自己免疫疾患との因果関係について深くは検討されていない。私たちの身体の皮膚表面には、細菌、真菌、原虫、ウイルスなど、多種多様な微生物が存在している。表皮細胞とこれらの微生物は相互作用することで皮膚バリアと恒常性を維持している。慢性皮膚炎症疾患の代表格であり、黄色ブドウ球菌の皮膚生着を特徴とする、アトピー性皮膚炎患者は SLE の発症リスクが高いことを示す臨床研究が報告された。さらに、SLE 患者の皮膚病変部では、黄色ブドウ球菌の生着数が増加していることが明らかになってきたことから、アトピー性皮膚炎の患者でみられる黄色ブドウ球菌の皮膚での生着が SLE の発症との関連性が示唆される。

この仮説を証明するために我々は上皮細胞特異的 I B 欠損マウスの形質に着目した。I B は、I B タンパク質ファミリーのひとつ属し NF- B の転写調節を制御することで NF- B 関連遺伝子の発現を調節する。我々の研究室との共同研究にて、本学の生命科学研究科の教室は、上皮細胞特異的 I B 欠損マウスおよび全身での I B 欠損マウスが、ヒトシェーグレン症候群に類似した抗 SS-A 抗体と抗 SS-B 抗体などの自己抗体の産生を伴う涙腺炎や眼周囲皮膚炎を自然発症することを報告した (Okuma A, et al. *Immunity*. 2013)。近年の臨床研究から I B シグナルの異常が乾癬や潰瘍性大腸炎などの発症に寄与することが明らかとなった。表皮細胞における I B は抗菌ペプチドの発現を調整することから、表皮細胞における I B が皮膚細菌叢の恒常性を担っていることが予測される。

2. 研究の目的

本研究では、皮膚細菌叢が自己免疫疾患の発症に関わることを検証することを目的とした。

3. 研究の方法

上皮細胞特異的 I B 欠損マウスを主に用いて研究を遂行した。マウスの背部皮膚に対して短期あるいは長期に黄色ブドウ球菌への塗布を行い、黄色ブドウ球菌の定着率、皮膚病理組織、皮膚に浸潤する炎症細胞の形質、表皮細胞の形質変化や血清中のサイトカインの変動を解析した。インターロイキン 23(IL-23)とインターロイキン 17 が重要なサイトカインであると判明した後、長期黄色ブドウ球菌塗布モデルにおいてそれぞれの中和抗体をマウスに投与し、自己免疫応答の反応を確認した。

4. 研究成果

上皮細胞特異的 I B 欠損マウスで発症する皮膚炎について詳細に検討したところ、皮膚細菌叢解析により皮膚表面にて黄色ブドウ球菌の生着数が増加していることを見出しました。上皮細胞特異的 I B 欠損マウスに対して黄色ブドウ球菌を塗布すると野生型と比較してより多くの黄色ブドウ球菌の生着を認め、それが表皮細胞の I B に寄与することを *in vivo* と *in vitro* で示しました。上皮細胞特異的 I B 欠損マウスでは SLE に特異的な抗 dsDNA 抗体と抗 Sm 抗体が上昇し、腎機能障害を呈することが判明した。この SLE 特異的な自己抗体と腎機能障害は、抗菌薬投与により改善し、黄色ブドウ球菌の長期塗布により増悪することが明らかとなった。こ

の結果は、皮膚細菌叢のアンバランスが SLE の症状を増悪することを指し示す結果である。

上皮細胞特異的 I B 欠損マウスに対して黄色ブドウ球菌の皮膚塗布を行ったときの皮膚での炎症反応について調べてみると、IL-17A 産生 T 細胞が増えており、血清中の IL-17A 濃度も上昇していた。皮膚における *Il12b*、*Il23a* や *Il17a* の遺伝子発現が上昇していることから黄色ブドウ球菌の皮膚塗布により IL-23/IL-17 軸の炎症反応が増強していることが示唆された。次に、皮膚への浸潤を FACS で解析したところ単球ではなく好中球が野生型マウスと比較して上皮細胞特異的 I B 欠損マウスで増えていた。近年好中球は自己の DNA やヒストンなどを放出する好中球細胞外トラップ (NET) という機構により細菌に対して防御反応を行うことが明らかとなっており、NETs の影響を調べたところ黄色ブドウ球菌の皮膚塗布後に上皮細胞特異的 I B 欠損マウスで NETs 形成が増えていた。また、好中球を除去する抗 Ly-6G 抗体あるいは DNaseI を投与により IL-17A 産生が減少していたことから黄色ブドウ球菌の皮膚塗布に対する防御反応として好中球の活性化と NETs 形成が関与することが判明した。

表皮細胞における I B の役割を詳細に検討したところ、黄色ブドウ球菌を塗布された表皮細胞はアポトーシスが亢進することが判明した。また、表皮細胞と好中球の共培養実験により、その表皮細胞のアポトーシスにより好中球が活性化し好中球細胞外トラップ (NET) を放出することを示した。さらに検討を進め、この NETs により樹状細胞が活性化し、Th17 細胞からの IL-17A 産生を促進し自己免疫炎症を亢進した。

好中球活性化や NETs 形成を抑制することで黄色ブドウ球菌の長期塗布による自己免疫応答が抑制するかどうかを検討した。抗 Ly-6G 抗体と DNaseI の投与により SLE 特異的自己抗体の産生と腎機能障害が抑制された。しかしながら、ヒトへの臨床応用を考えたときに好中球機能を抑制すると感染症発症の懸念があるために、好中球活性化の下流にある IL-23 と IL-17A のシグナルに着目した。抗 IL-23p19 抗体と抗 IL-17A 抗体の投与により、黄色ブドウ球菌の長期塗布による SLE 特異的自己抗体の産生と腎機能障害が抑制された。

したがって、黄色ブドウ球菌の皮膚生着により表皮細胞のアポトーシスが亢進し、その下流で好中球の活性化と IL-23/IL-17 免疫応答が促進することにより自己免疫炎症が惹起することが示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Terui Hitoshi, Yamasaki Kenshi, Wada-Irimada Moyuka, Onodera-Amagai Mayuko, Hatchome Naokazu, Mizuashi Masato, Yamashita Riu, Kawabe Takeshi, Ishii Naoto, Abe Takaaki, Asano Yoshihide, Aiba Setsuya	4. 巻 7
2. 論文標題 Staphylococcus aureus skin colonization promotes SLE-like autoimmune inflammation via neutrophil activation and the IL-23/IL-17 axis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Science Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciimmunol.abm9811	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Hitoshi Terui
2. 発表標題 Skin dysbiosis promotes autoimmune inflammation via neutrophil activation and the IL-23/IL-17 axis.
3. 学会等名 The 1st International Societies for Investigative Dermatology Meeting（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hitoshi Terui, Kenshi Yamasaki, Moyuka Wada-Irimada, Mayuko Onodera-Amagai, Naokazu Hatchome, Masato Mizuashi, Riu Yamashita, and Setsuya Aiba
2. 発表標題 I B ⁻ -deficient epidermis mediates systemic autoimmune inflammation via skin dysbiosis
3. 学会等名 The 46th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology（国際学会）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	山崎 研志 (Yamasaki Kenshi) (40294798)	東北大学・医学系研究科・准教授 (11301)	
研究分担者	照井 仁 (Terui Hitoshi) (70965045)	東北大学・大学病院・助教 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関